

Óxido nítrico:

un héroe disfrazado de villano

Verónica

Lira Ruan

Raúl

Arredondo Peter

EL ÓXIDO NÍTRICO EN LA VIDA COTIDIANA

Es bien sabido que cuando algo funciona correctamente se debe a que sus componentes se encuentran en el lugar y el momento adecuados. Muestras de ello las hay como estrellas en el cielo. Por ejemplo, para que ustedes lean este artículo fue necesario, entre muchas otras cosas, que nosotros recordáramos la historia que se describe a continuación, que la organizáramos de un modo coherente y que la escribiéramos. Después del proceso editorial, un vehículo llevó este ejemplar de *Elementos* al sitio en donde ustedes lo compraron. Al momento que ustedes leen este artículo, se ponen en funcionamiento las células de su sistema visual y las redes nerviosas que llevan la información hasta el cerebro, para procesarla y almacenarla en la memoria. Después de leer este artículo ustedes se podrán dar cuenta de que los acontecimientos anteriores tienen un protagonista en común, el óxido nítrico, el cual se debe encontrar en el lugar y momento adecuados para que se complete el trayecto que inicia con la escritura del artículo, y que culmina con el almacenamiento de la información en el cerebro del lector. Veamos a qué nos referimos específicamente. El óxido nítrico, al que llamaremos por su nombre corto y mundialmente aceptado de NO (las siglas en Inglés de *nitric oxide*), es un gas inodoro e incoloro, que se forma por la unión de dos átomos, uno de nitrógeno (N) y otro de oxígeno (O). El NO se produce durante la combustión de la gasolina de los automóviles, y forma parte de esa pesadilla a la que llamamos “smog”. Una vez en la atmósfera, el NO se desplaza a la estratosfera (a una altitud de unos 18,000 m), en donde participa en la degradación de la capa de ozono,

la cual protege a la superficie de la Tierra, o litosfera, de la radiación ultravioleta (uv). Con estos antecedentes seguramente ustedes han dibujado en su mente una imagen de villano del NO, y les resulta difícil imaginar que esta molécula pequeña, y hasta este momento dañina, tiene cualidades que la hacen acreedora de la imagen de héroe que encabeza el título de este artículo. Durante los últimos años se ha descubierto que el NO realiza funciones que son importantes para la supervivencia de los organismos, las cuales analizaremos a continuación.

EL PRIMER ENCUENTRO CON EL NO EN LOS ORGANISMOS

La historia del descubrimiento del NO como una molécula importante en la fisiología de los organismos es relativamente nueva, y comenzó durante los primeros veinticinco años del siglo xx. Sin embargo, el hombre, sin saberlo, ha utilizado el NO desde el principio de la civilización. Por ejemplo, los antiguos sumerios curaban las carnes con sales de nitratos, lo que les permitía preservar su color rojo y, además, eliminar a la bacteria que causa el botulismo (*Clostridium botulinum*). Esto se debe a que las sales de nitratos producen NO, el cual es un bactericida potente. Entre finales del siglo xix y principios del siglo xx, se aprovechó el efecto que tiene el NO en la fisiología del cuerpo humano, sin embargo, el uso del NO como fármaco fue casual. Durante esa época era común administrar nitroglicerina a los pacientes que sufrían de angina de pecho. En esos pacientes, la administración de nitroglicerina provoca una vasodilatación de las arterias coronarias y, con ello, el alivio del dolor y la disminución de la posibilidad de sufrir un infarto al miocardio. El mecanismo que está detrás de este efecto fue desconocido hasta mediados de la década de 1980, cuando se estableció que la nitroglicerina libera NO y que esta molécula es la responsable de disminuir la presión sanguínea.^A De este modo se inició la historia de la investigación que ha permitido entender el papel que juega el NO en la fisiología de los organismos.

LA DOBLE PERSONALIDAD DEL NO

Actualmente se sabe que el NO se produce en el cuerpo humano en una gran variedad de tipos celulares, y que participa en procesos que permiten la supervivencia de los orga-



nismos, tal como la regulación de la presión sanguínea, el desarrollo del sistema nervioso central, facilitar la transmisión nerviosa en los procesos de aprendizaje y memoria, y la activación de la respuesta inmune. El NO participa en la reproducción sexual, ya que funciona como señal en las primeras etapas del desarrollo embrionario.^B En otros organismos, como las plantas, el NO también interviene en procesos importantes, como son el metabolismo, el desarrollo y la defensa. Sin embargo, no todo es miel sobre hojuelas, el NO también puede resultar muy dañino, ya que la pérdida de control en sus niveles tiene consecuencias graves que ponen en peligro la supervivencia del organismo. El mal funcionamiento en la producción o disponibilidad del NO se asocia con enfermedades como la hipertensión, la disfunción eréctil (la función del fármaco llamado Viagra es prolongar el efecto del NO en la dilatación de los vasos sanguíneos en el cuerpo cavernoso del pene, lo que permite la entrada de la sangre que es necesaria para lograr la erección), procesos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer y el mal de Parkinson, y con disfunciones del sistema inmune, como el choque séptico, lo que puede resultar en la muerte del paciente. El NO es un villano terrible para los organismos patógenos, como las bacterias. La respuesta de defensa de los animales y las plantas incluye a la producción de NO que, debido a su poder bactericida, elimina a los patógenos. En suma, el protagonista de esta historia, el NO, es una especie de doctor Jekyll y mister Hyde, debido a que es una molécula poderosa que regula funciones vitales y que, sin embargo, resulta fatal si está fuera de control.¹

PERFIL QUÍMICO DEL ÓXIDO NÍTRICO

Detrás de todo gran personaje existe una serie de motivos que permiten entender la razón por la que el héroe o villano se hace de tal reputación. El óxido nítrico no es la excepción, y para comprender su funcionamiento es necesario analizar de forma breve las características químicas de esta molécula.

El NO es una molécula formada por dos átomos, un átomo de oxígeno (O) y otro de nitrógeno (N). El número de partículas subatómicas que forman a un átomo es específico de cada elemento, y esta característica determina las propiedades de los elementos. El oxígeno tiene 8 electrones y el nitrógeno tiene 7 electrones; por lo tanto, cuando estos dos

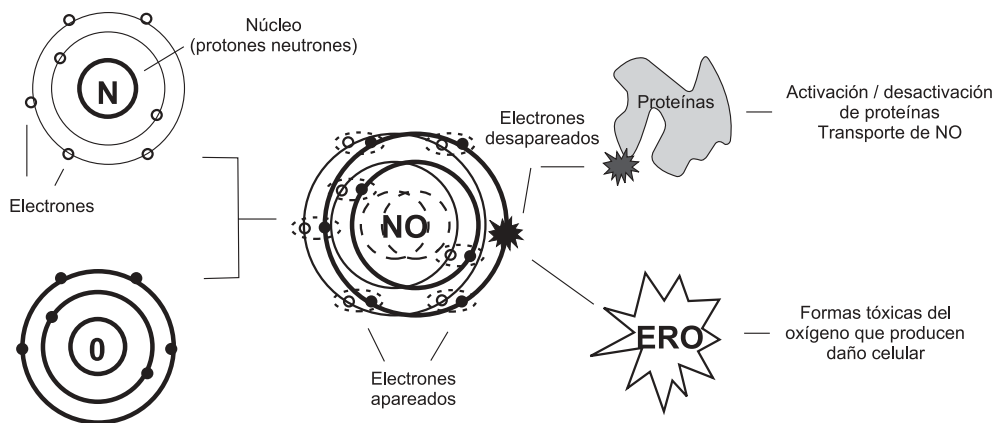


FIGURA 1. Formación del óxido nítrico. Una molécula de óxido nítrico (NO) se forma por la combinación de un átomo de nitrógeno (N) y uno de oxígeno (O). La molécula de NO posee un electrón desapareado, el cual interactúa rápidamente con otras moléculas que también tienen electrones desapareados, tales como las proteínas o las especies reactivas del oxígeno (ERO).

átomos se encuentran sus electrones se aparean para formar una molécula de NO, que contiene un electrón desapareado (Figura 1). La presencia del electrón desapareado permite al NO interactuar rápidamente con otros átomos que son abundantes en los sistemas biológicos, tal como el N y el azufre (S) que forman parte de las proteínas. La unión del NO a las proteínas, u otras moléculas, se llama nitrosación, y este proceso es la base química que permite al NO ejercer diversas funciones en los organismos (Figura 1). El NO también interactúa con átomos metálicos, como el hierro (Fe), el cual forma parte de proteínas que se conocen como ferroproteínas o hemoproteínas. Estas proteínas son fundamentales en la regulación de un gran número de funciones biológicas, como la producción de energía, el transporte y almacenamiento del oxígeno y la transducción de señales, es decir, el proceso que coordina la respuesta en el interior de la célula a las señales externas.

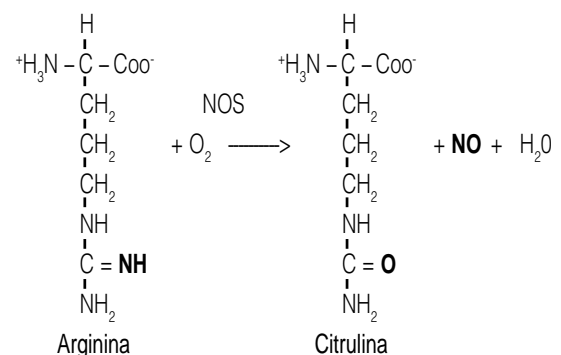
Por otro lado, el NO reacciona rápidamente con el oxígeno molecular (O_2) y con diferentes formas del O_2 que son altamente reactivas, como los radicales superóxido (O_2^-) e hidroxilo (OH), los cuales son sumamente tóxicos. La interacción del NO con el O_2^- genera peroxinitrito y otras formas reactivas del N que también son tóxicas, por lo tanto, la combinación del NO con las formas reactivas del O_2^- constituye el principal mecanismo mediante el cual el NO daña a las células.²

La mayoría de las moléculas que regulan la fisiología de los organismos, como las proteínas y algunas hormonas, son moléculas complejas que requieren de receptores y canales en la superficie celular para poder entrar o salir de la célula. En cambio, el NO es una molécula pequeña y neutra que difunde libremente a través de la membrana celular. Así,

el NO puede alcanzar rápidamente a las moléculas con las que interactúa en el interior de la célula.

VIDA Y OBRA DEL NO EN LOS ORGANISMOS

Los componentes de las células, como son las proteínas, azúcares, lípidos y ácidos nucleicos, se sintetizan en el organismo de manera ordenada a través de un sistema de reacciones en serie. La síntesis del producto final puede regularse en una o más de las etapas intermedias de dicha serie de reacciones. El NO se produce mediante la acción de la enzima llamada óxido nítrico sintasa (NOS, siglas que provienen del inglés *nitric oxide synthase*), la cual contiene diferentes moléculas accesorias que trabajan en conjunto para formar el NO a partir del aminoácido arginina y O_2 . Durante esta reacción la arginina se convierte en una molécula de citrulina al liberar NO y consumir O_2 (el cual dará lugar a una molécula de agua):



La actividad de la enzima NOS se regula mediante la disponibilidad de diversas materias primas (o sustratos), como son la arginina, el O_2 y otras moléculas que son necesarias para la síntesis del NO. En los mamíferos, como el hombre y el ratón, existen diferentes tipos de NOS que se activan en tejidos particulares y que se regulan por señales específicas, tal como los niveles de calcio. La regulación de la actividad de las NOS es de suma importancia, debido a que el exceso en la producción, o la disminución en la síntesis de NO puede conducir al mal funcionamiento, e incluso a la muerte del organismo.

Las primeras investigaciones sobre el NO en la fisiología humana se iniciaron con el estudio del papel que juega en la regulación de la presión sanguínea. Cuando la presión sanguínea es alta se genera una señal en las neuronas, la cual tiene como blanco a las células endoteliales de los vasos sanguíneos. Esta señal induce la síntesis del NO por las NOS del tejido endotelial, el NO que se produce difunde hacia la capa de músculo liso que rodea al vaso sanguíneo; una vez dentro de las células musculares, o miocitos, el NO activa a la enzima guanilato ciclasa (que contiene Fe), la cual inicia una serie de reacciones que conducen a la relajación del músculo liso y, por consiguiente, a la disminución de la presión sanguínea. La identificación del NO como la molécula mensajera que controla a la presión sanguínea constituye un hito en la comprensión del modo de acción del NO en diversos escenarios fisiológicos (los descubridores de este mecanismo, los doctores Ignarro, Furchgott y Murad, obtuvieron el premio Nobel de Medicina en 1998^c). Por la misma época en que se realizaban estos descubrimientos, a mediados de la década de 1980, otro grupo de investigadores que estudiaban a los macrófagos, que son células del sistema inmune, encontraron que estas células también producen NO cuando se estimulan por señales que provienen del propio sistema inmune después de detectar a un agente patógeno. El NO que producen los macrófagos resulta tóxico para las células infectadas y los agentes patógenos, debido a que ingresa en las células e inactiva a las proteínas que son importantes para la producción de energía, la transducción de señales y la síntesis de los ácidos nucleicos, lo cual provoca la muerte celular.

Las investigaciones sobre la función del NO en el sistema cardiovascular y en la respuesta inmune se desarrollaron casi simultáneamente, y poco tiempo después se inició el



estudio de la fisiología del NO en diversos sistemas biológicos. Por ejemplo, en el sistema nervioso central se encontraron neuronas que son capaces de producir NO en el hipocampo, que es una región relacionada con el aprendizaje y la memoria. Posteriormente, se detectó la producción de NO en otras regiones del cerebro, por ejemplo, en las áreas visual y olfativa, de modo que, al parecer, el NO también es importante en la percepción sensorial. En la década de 1990 se encontró que las células del sistema nervioso periférico también producen NO. Por ejemplo, el NO se produce en las neuronas que inervan al músculo liso del sistema vascular, el tejido endotelial del estómago y los pulmones. La participación del NO en procesos distintos que se llevan a cabo simultáneamente mostró que esta molécula regula redes fisiológicas que son importantes para el buen funcionamiento de diversos tejidos. En este contexto, es evidente que el control de la producción de NO es una cuestión de vida o muerte; por ejemplo, la producción descontrolada de NO se ha asociado con la muerte neuronal en algunas zonas del cerebro, lo cual ocurre en procesos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer. Además, el daño neuronal que causa la isquemia, o falta de flujo de O_2 al cerebro, se debe en parte a la formación del peroxinitrito ($ONOO^-$), que es una forma muy tóxica del NO, el cual se produce cuando se reestablece el flujo de O_2 al cerebro.¹

Durante el recorrido por los escenarios en los que el NO actúa hemos comprobado que, pese a su simplicidad química, es una molécula con una gran versatilidad, lo que le permite regular de un modo fino y complejo una gran variedad de funciones que son de importancia para la vida de los organismos. Por lo tanto, resulta necesario conocer con mayor detalle el funcionamiento del NO en el organismo. El interés por entender la química y el efecto fisiológico del NO se ha extendido al estudio de las funciones de esta molécula en diversos organismos, incluyendo a las plantas y bacterias. Esta es la parte más reciente de la historia del NO y la que ha brindado grandes sorpresas.

TRAS LA PISTA DEL NO EN LAS PLANTAS

El NO apareció como protagonista en la fisiología vegetal cuando se descubrió su participación en la respuesta de las plantas contra el ataque de agentes patógenos. Desde principios de la

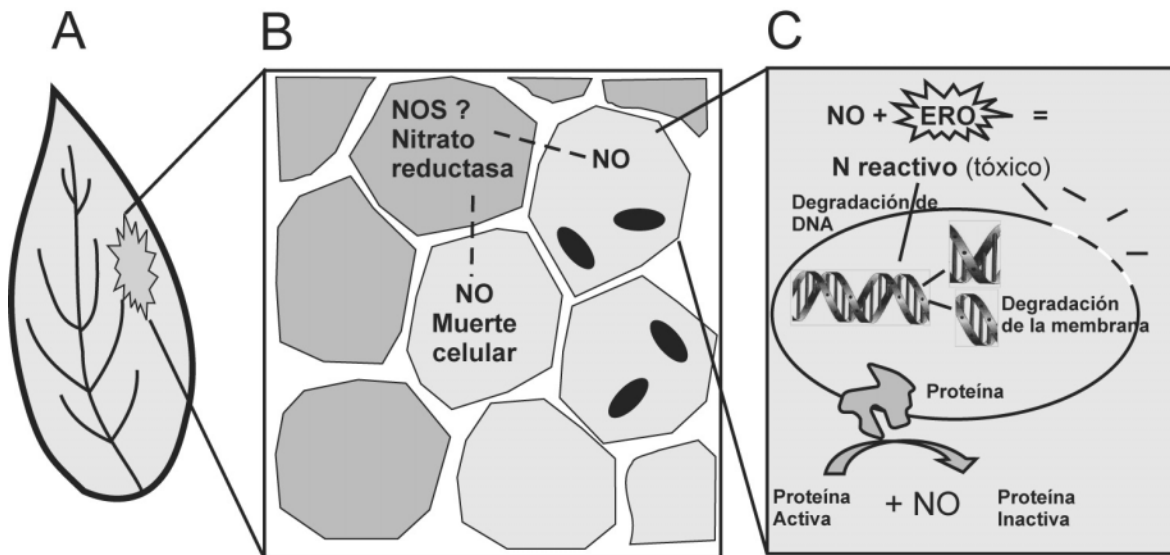


FIGURA 2. El papel del NO en la defensa de las plantas contra el ataque de patógenos. (A) En una hoja de una planta que fue infectada por una bacteria patógena se forma una mancha (representada por la punteada) en la región en donde se localiza la infección. (B) El acercamiento a la zona infectada permite observar que las células sanas (que se muestran en gris oscuro) producen NO, probablemente mediante la actividad de la enzima NOS, y por la acción de la enzima nitrato reductasa. El NO difunde hacia las células infectadas por el agente patógeno (que se representa como óvalos negros) y hacia las células vecinas, en donde provoca la muerte celular (células que se muestran en gris claro), lo que permite confinar al patógeno a la zona de la infección. (C) El NO actúa como un agente bactericida en las células infectadas al interactuar con las especies reactivas del oxígeno (ERO), lo que genera formas tóxicas del N, las cuales dañan a los patógenos mediante la degradación de la membrana celular y el ADN, así como la inactivación de proteínas que son importantes para la supervivencia.

década de 1990 a la fecha, las investigaciones en esta área del conocimiento han aportado información nueva cada día. Las plantas, a diferencia de otros organismos, son seres que no se desplazan, de modo que han desarrollado mecanismos de defensa que se basan en la generación de compuestos químicos que son tóxicos para el agente infeccioso, lo que les permite evitar el daño que causan los virus, bacterias, hongos o diversos depredadores. El arsenal químico que contienen las plantas es amplio y variado, ya que sintetizan desde sustancias que resultan simplemente desagradables al gusto, como por ejemplo el girasol, que sintetiza compuestos terpenoides que producen un sabor agrio que ahuyenta a los depredadores, hasta venenos potentes, como el cianuro que se acumula en la raíz de algunas plantas tropicales y en las flores de la alfalfa. De modo general, la primera línea de defensa se activa cuando la planta sufre algún daño, desde una herida por un corte, hasta la infección por microorganismos. Esta primera línea de defensa consiste en la generación abrupta de especies reactivas del O_2 , lo que permite aislar al patógeno en el sitio de la lesión mediante la muerte de las células que fueron infectadas; como resultado, el patógeno queda inmovilizado en una región muerta de la planta de donde no tiene escapatoria y, finalmente, es eliminado (Figura 2).

El NO se genera durante la primera respuesta al ataque de un patógeno, y se ha encontrado que desempeña más de

una función en el mecanismo de defensa de la planta. En primer lugar, actúa en combinación con otras moléculas tóxicas, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , comúnmente conocido como agua oxigenada), lo que permite eliminar a los patógenos. En segundo lugar, el NO funciona como un mensajero que coordina los procesos que conducen a la muerte de las células que fueron infectadas por el patógeno. Este mecanismo se lleva a cabo al promover la activación de genes y proteínas que son importantes en la defensa de la planta. Por si esto fuera poco, dependiendo de la etapa de la respuesta de la planta, el NO también funciona como un agente protector de las células vegetales al inactivar a las especies reactivas del O_2 . La participación del NO en la respuesta de defensa de la planta es uno de los ejemplos más impresionantes de la gran versatilidad de esta molécula, lo que le permite modular procesos que ocurren simultáneamente en el interior de la célula.³

La participación del NO en este mecanismo abrió la puerta para la búsqueda de otras funciones suyas en la fisiología vegetal. Actualmente sabemos que el NO es una molécula esencial para el desarrollo de las plantas, ya que estimula la germinación de las semillas, promueve la expansión de las hojas y el crecimiento de la raíz primaria, y retarda la madura-



© Lorena Campbell, Bogotá, 2002.

ción de los frutos (es decir, el NO contribuye a que los jitomates duren frescos durante más tiempo). La participación del NO en estas funciones se lleva a cabo en asociación con otras moléculas, tales como las hormonas vegetales, y su efecto ocurre mediante la nitrosación de las proteínas.⁴

Las plantas, al igual que el resto de los organismos, están frecuentemente expuestas a condiciones ambientales adversas, a las que llamamos condiciones de estrés; por ejemplo, la falta de agua, las temperaturas extremas y la contaminación por agentes químicos. Para sobrevivir a estas condiciones, en las plantas existen procesos que les permiten modificar su metabolismo, lo que da lugar a la adaptación de la planta a las condiciones adversas. La contribución del NO en la respuesta al estrés es ambigua, es decir, esta molécula puede participar como héroe o villano, según las condiciones que prevalezcan. Por ejemplo, cuando las plantas se tratan con herbicidas se produce un estrés debido al incremento intracelular de especies reactivas del O_2 , lo cual conduce a la muerte de las células en la hoja. Se ha comprobado que el NO contribuye a la destoxificación de los herbicidas en las plantas ya que inactiva a las especies reactivas del O_2 , con lo cual aminora el daño que el herbicida podría causar. Sin embargo, a su vez el NO también puede causar daño. Por ejemplo, inhibe la fotosíntesis, por lo cual genera un problema de estrés ya que se limita la cantidad de nutrientes y energía que la planta requiere para su funcionamiento.⁵ Muchos de los procesos en los que participa el NO en las plantas están razonablemente bien estudiados, de modo que

aparece como una pieza nueva que encaja en varios sitios del complejo rompecabezas de la biología vegetal.

MISTERIOS NO RESUELTOS

Aunque es mucho lo que se sabe acerca de la química y los efectos fisiológicos del NO, todavía existen muchas preguntas que quedan por contestar. Actualmente, el NO es una de las moléculas que más se estudian en todo el mundo. No obstante, aún se desconoce el mecanismo mediante el cual las células productoras de NO, tales como las neuronas o los macrófagos, resisten al efecto tóxico de esta molécula. La respuesta comienza a vislumbrarse a partir del estudio de las bacterias patógenas que son resistentes al NO. Éstas responden al ataque por NO mediante dos vías. Una es la síntesis de proteínas que contienen Fe, lo cual les permite atrapar al NO y convertirlo en una molécula inocua. Un ejemplo muy interesante de estas proteínas son las flavohemoglobinas de las bacterias, las cuales son capaces de oxigenar al NO para formar nitrato (NO_3), que es una forma no tóxica del nitrógeno; se ha observado que las bacterias que son incapaces de sintetizar dicha flavohemoglobina son altamente sensibles al NO y, por lo tanto, pierden su patogenicidad. Otro mecanismo de resistencia al NO se descubrió en *Helicobacter pylori*, que es una bacteria que se aloja en la película mucilaginoso del estómago y que se asocia con la existencia de gastritis crónica y cáncer del estómago. Esta bacteria produce la enzima arginasa que consume a la arginina del huésped. La arginina es el aminoácido precursor en la producción del NO, por lo que la actividad de la arginasa



resulta en la carencia de arginina para la síntesis de NO por parte de la NOS de los macrófagos. De esta manera *H. pylori* evade a uno de los mecanismos de defensa del sistema inmune del huésped.

Otro misterio no resuelto es el origen del NO en las plantas. La búsqueda de la enzima NOS, u otras enzimas similares, se inició cuando se detectó la presencia de NO en las células vegetales. Los resultados que se han obtenido hasta este momento son particularmente intrigantes, ya que existen evidencias de que las plantas sintetizan NO a partir de la arginina y, por lo tanto, que existe una NOS vegetal. Sin embargo, los esfuerzos para detectar a la NOS, o al gen que la sintetiza, han sido infructuosos. Por otro lado, recientemente se demostró que una proporción alta del NO que se genera en las células vegetales se forma como un producto intermediario en el proceso de la asimilación del nitrógeno, mediante la acción de la enzima nitrato reductasa. Así las cosas, los esfuerzos de los investigadores de esta área se enfocan a estudiar con detalle el funcionamiento de la nitrato reductasa en los diferentes órganos de las plantas, así como a extender la búsqueda de fuentes no enzimáticas de NO.⁴

Aún queda un camino largo que recorrer para poder contestar estas y otras preguntas, así como para comprender la relación que existe entre el NO y moléculas tales como las hormonas, los neurotransmisores y las proteínas reguladoras de la expresión de los genes. La solución a estas interrogantes contribuirá no sólo a la mejor comprensión de la fisiología animal y vegetal, sino también al diseño de nuevos agentes terapéuticos que permitan solucionar problemas de salud humana y medio ambiental.

N O T A S

- ¹ Existe una revisión muy interesante sobre la relación entre el NO, la nitroglicerina y la salud, en la siguiente página de internet: <http://www.beyonddiscovery.org> (en la sección "article index" ir a la liga "From explosives to the gas that heals").
- ² Para saber más acerca de este tema en particular, se recomienda al lector visitar la siguiente página de internet: www.stanford.edu/dept/news/report/news/august9/sperm-89.html.
- ³ El lector interesado en conocer más sobre los premios Nobel puede visitar la siguiente página de internet: <http://www.nobel.se>

R E F E R E N C I A S

- ¹ Lancaster, J. R., "Nitric oxide in cells", *American Scientist*, vol. 80, 1992, pp. 248-259.
- ² Stamler, J. S., Singel, D. J. y Loscalzo, J., "Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms", *Science*, vol. 258, 1992, pp. 1898-1902.
- ³ Durner, J. y Klessig, D. F., "Nitric oxide as a signal in plants", *Current Opinion in Plant Biology*, vol.2, 1999, 369-374.
- ⁴ Lamattina, L., García-Mata, C., Graziano, M. y Pagnussat, G., "Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule", *Annual Review of Plant Biology*, vol. 54, 2003, pp. 109-136.
- ⁵ Beligni, M. V. y Lamattina, L., "Nitric oxide in plants; the history is just beginning", *Plant Cell and Environment*, vol. 3, 2001, pp. 267-278.

Verónica Lira Ruan, estancia posdoctoral en la Universidad de Manitoba, Canadá; Raúl Arredondo Peter, Laboratorio de Biofísica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
liraruan@ms.umanitoba.ca